

51457-2001700-10361

Select CR

DELPHION

RESEARCH

Products

INSIDE DELPHONI

Log Out **Work Files** **Saved Branches**

My Account

Search: [Quick/Number](#) [Boolean](#) [Advanced](#) [Derwent](#)

Help

The Delphion Integrated View: INPADOC Record

Get Now: ☒ PDF | [File History](#) | [Other choices](#)

Tools: Add to Work File: Create new Work File  Add

View: [Jump to:](#) Top [Go to: Derwent](#)

☒ **Email this to a friend**

Title: CN1405322A: Gene chip for jointly detecting hepatitis C, hepatitis B, AIDS and syphilis viruses and its detection method

Derwent Title: Gene chip for jointly detecting hepatitis C, hepatitis B, AIDS and syphilis viruses and their detection method [Derwent Record]

Country: CN China
Kind: A Unexamined APPLIC. open to Public inspection

Kind: A Unexamined APPLIC. open to Public inspection !

Inventor: HAI WU; China
XUEKUI XIAO; China
XIAOFENG SUN; China

Assignee: BOHUA GENE CHIP TECHNOLOGY CO., LTD., SHANGHAI China
News, Profiles, Stocks and More about this company

Published / Filed: 2003-03-26 / 2001-08-09

Application CN20011000126432

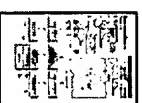
IPC Code: IPC-7: C12Q 1/68; C12Q 1/70;

ECLA Code: None

Priority Number: 2001-08-09 CN2001000126432

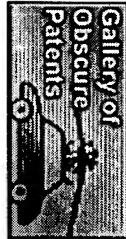
Abstract: The invention discloses a new method of detecting virus genes of second hepatitis, third hepatitis, AIDS and lues and common-detecting chip. The method adopts gene-chip technique to determine virus genes. The chip can expediently and quickly detect the four viruses at the same time.

Family:



PDF	Publication	Pub. Date	Filed	Title
<input checked="" type="checkbox"/>	CN1405322A	2003-03-26	2001-08-09	Gene chip for jointly detecting hepatitis C, hepatitis B, AIDS and syphilis viruses and its detection method
1 family members shown above				

Other Abstract Info:
CHEMABS 142(03)033639U



Nominate this for the Gallery...

Copyright © 1997-2006 The Thomson Corporation

[Subscriptions](#) | [Web Seminars](#) | [Privacy](#) | [Terms & Conditions](#) | [Site Map](#) | [Contact Us](#) | [Help](#)

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

C12Q 1/68

C12Q 1/70



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01126432.2

[43] 公开日 2003 年 3 月 26 日

[11] 公开号 CN 1405322A

[22] 申请日 2001.8.9 [21] 申请号 01126432.2

[71] 申请人 上海博华基因芯片技术有限公司

地址 200092 上海市中山北二路 1111 号 3 号
楼 12 层

[72] 发明人 吴海 肖学葵 孙晓丰 陈秋雯
华兵

权利要求书 1 页 说明书 3 页 附图 1 页

[54] 发明名称 一种对丙肝、乙肝、爱滋和梅毒病毒进行共检的基因芯片及其检测方法

[57] 摘要

本发明公开了一种新的一种乙肝、丙肝、爱滋、梅毒病毒基因检测方法和共检芯片，其检测方法是应用基因芯片技术鉴定乙肝、丙肝、爱滋、梅毒病毒基因。该共检芯片能方便快捷地对四种病毒基因同时进行检测，便于临床诊断和治疗引导。

ISSN 1008-4274

1. 一种乙肝、丙肝、爱滋、梅毒病毒基因共检芯片，其特征在于可在体外同时检测人血清中乙肝、丙肝、爱滋和梅毒四种病毒 DNA 或 RNA，从而可以在诊断乙肝、丙肝、爱滋和梅毒中应用。
- 5 2. 一种权利要求 1 中提到的共检芯片，其特征在于：
 - a) 所述的作为检测芯片载体的是玻片；
 - b) 玻片上点有 HBV 特征基因片断、HCV 特征基因片断、HIV 特征基因片断、TP 特征基因片断、乙肝阳性植物内参照基因、丙肝阳性植物内参照基因、爱滋阳性植物内参照基因、梅毒阳性植物内参照基因、阴性植物内参照基因、空白参照样品。
- 10 3. 一种制备权利要求 2 所述的检测芯片的方法，包括 HBV、HCV、HIV、TP 特征基因的制备、转化、测序验证，靶基因的制备纯化、步骤，点样，其特征在于：
 - a) HBV 特征基因、HCV 特征基因、HIV 特征基因、TP 特征基因是直接取自病人的血清抽提物，cDNA 是通过 RT-PCR 和 nest-PCR 方法获得的；
 - 15 b) 含有经过测序验证的 HBV 特征基因、HCV 特征基因、HIV 特征基因、TP 特征基因和 5 个植物基因片断的质粒作为 PCR 扩增的模板，经过两次扩增后，纯化 PCR 产物，得到样品；
 - c) 将样品按照点样矩阵的要求点于玻片上，干燥后，去除背景干扰。
- 20 4. 一种利用如权力要求 1 所述的乙肝、丙肝、爱滋、梅毒病毒基因共检芯片检测待检测样本中乙肝、丙肝、爱滋、梅毒病毒的方法，包括：从待检测样本中抽提核酸，反转录扩增，标记荧光，杂交，检测，分析，其特征在于：
 - (1) 利用 HBV 核酸抽提液、HCV 核酸抽提液、HIV 核酸抽提液和 TP 核酸抽提液从待测样本中分别抽提乙肝、丙肝、爱滋和梅毒病毒核酸；
 - (2) 利用反转录试剂进行 RT-PCR；
 - 25 (3) 利用标记试剂和荧光标记混合物对 PCR 产物进行标记；
 - (4) 利用杂交试剂将探针和检测芯片进行杂交；
 - (5) 将杂交后的检测芯片进行扫描；
 - (6) 利用软件分析杂交结果，得出诊断结果。

一种对丙肝、乙肝、爱滋和梅毒病毒进行共检的基因芯片及其检测方法

技术领域

5 本发明属免疫学检测领域，具体地是一种应用基因芯片技术对丙肝、乙肝、爱滋和梅毒病毒进行共检的方法。

背景技术

10 乙肝、丙肝、爱滋和梅毒 (HBV、HCV、HIV 和 TP) 是常见的传染病, 这四种传染病的病原体有的是 DNA 病毒, 有的是 RNA 病毒。

乙型肝炎血清方法证实由四种重要的亚型 (adr, adw, ayr, ayw) , 决定这四种亚型的病毒基因基础是由于其 S 基因是乙肝病毒基因中变异率发生最高的基因区, 所以亚型又派生出许多亚亚型。丙肝病毒是一种很小的 RNA 病毒, 它包含一个长度为 10, 000 个核苷酸的单向的正向的 RNA 分子。基因组含有一个据信可被转化成单个的, 大聚合蛋白并随后进行处理的单个的长的开放阅读框。这个开放阅读框始于一个非转化区域 (UTR) 之后的核苷酸 343 (采用原型病毒编号系统)。5' UTR 序列是相对不变的, 并且在病毒的复制和调节方面是很重要的。编码区域的 5' 端也是不变的。人类免疫缺陷病毒 (HIV) 是获得型人类免疫缺陷综合症 (AIDS) 和相关失调的致病剂。HIV 是逆转录病毒家族的一种 RNA 病毒, 并表现出所有逆转录病毒的 5' LTR-gag-pol-env-LTR3' 结构。HIV 通过复制从细胞中芽生和破坏细胞膜, 杀伤它感染的细胞。

25 目前检测丙肝、乙肝、爱滋和梅毒病毒的方法主要是多聚酶链反应（PCR）技术，将丙肝、乙肝、爱滋和梅毒病毒的核酸扩增后进行核酸碱基的序列分析，检测病毒的碱基序列以获得其变异结果。这种方法虽比较精确，但较繁琐，分析成本高。

发明内容

本发明的目的旨在提供一种简便易行的丙肝、乙肝、爱滋、梅毒共检方法。本发明的目的是以下述方式实现的：在丙肝、乙肝、爱滋和梅毒的每一种

病原体中选择其保守区域，并在该区域设计适当的探针和引物；进而采用适当的方法提取样本中的病原体核酸（RNA or DNA）、扩增、杂交、扫描、分析，得出结论。

5

附图说明

下列附图用于说明本发明的具体实施方案，而不用来限定由权利要求书所界定的本发明范围。

图 1 是本发明芯片的具体点样方法。

10

具体实施方式

下面结合具体实施例，进一步阐述本发明。应理解，这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件如 Sambrook 等人，分子克隆：实验室手册 (New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989) 中所述的条件，或按照制造厂商所建议的条件。

15

实施例 1: 样本处理, 扩增、标记及杂交

样本处理:

- 20 ● HBV: 血清 100+300Solution D 冰浴 10mins + 200 苯酚氯仿(碱性) 13000rpm, 10min 取上清, 加 2 倍体积的无水乙醇、2ul tRNA (5mg/ml) 和 1/10 体积的 NaAc -20℃放置 30min 13000rpm, 15min 去上清, 沉淀加 400ul 75%乙醇洗涤 2 遍, 晾干;
- HCV: 方法与 HBV 相同, 只是苯酚氯仿要用酸性的; 也可采用煮沸法;
- 25 ● HIV: 先 HCV 的抽提方法, 其他方法有待进一步查证;
- TP: 先采用煮沸法, 再用碱裂解法。

扩增、标记:

- ①HCV 和 HIV: 分别进行 RT 和 NEST-PCR;
②HBV: 一次 PCR 扩增;
③TP: NEST-PCR, 尝试一次 PCR。

杂交:

取标记产物 7.5ul, 加入杂交液 7.5ul, 混匀, 94℃变性 3min, 48℃杂交 30min, 用 2×SSC+0.2%SDS 42℃洗涤 15min, 用 2×SSC 洗涤 10min; 避光晾干。

扫描、结果分析和得出结论:

将杂交好的芯片在扫描仪中扫描，根据图象分析，得到结论。

实施例 2：芯片的制备：

点样液的制备：

- 5 将合成的带氨基修饰的 Oligo 干粉用 TE 溶解成 100uM 的原液，原液再用 TE 稀释成 20uM，临点样前用 spotting solution 对半稀释成 10uM。

点样：

将制备的点样液，加入 96 孔板中，按图 1 用 GMS417 点样仪点样：

点样后处理：

- 10 点样完成后，水合 30min，用 0.2%SDS 洗涤 2min，重复一次，再用水洗涤 2min，重复一次，晾干，点样区用 NaBH₄ 封闭 5min，用 0.2%SDS 洗涤 1min，重复两次，用水冲洗干净，晾干，4℃保存。

扫描后结果判断：

根据各个病原体所对应的特异性探针条带的荧光信号即可得出结论。

				阳参
	阴参	##	##	## 0 0
5	HBV	##	##	## 0 0
	HCV	##	##	## 0 0
10	HIV	##	##	## 0 0
	TP	##	##	## 0 0

图 1